

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KAPANG *Aspergillus* spp.  
DARI SIMPLISIA RIMPANG KUNYIT  
(*Curcuma domestica* Val.)**



**SKRIPSI**

**RETNO RAHAYU  
J2B000108**

**Pembimbing :  
Dra. MG. Isworo Rukmi, M. Kes  
Sri Pujiyanto, S. Si., M. Si.**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2005**

*"The future is not something to see, but something to create".*

*"We are nothing like God. Not only had our powers limited. We sometimes become the devil himself".*

*"Regret is something that makes you start thinking what you should do to avoid going through all that suffering again".*

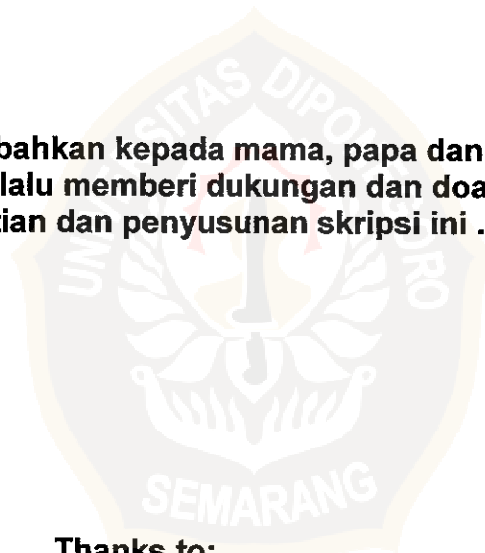
*"Life's too short for hesitation".*

*"There is no such thing as a perfect person that is why we can't live alone".*

*"A failure today means a better chance of success tomorrow".*

*"When bad things happen, don't give up. The day will come when you will look back and laugh at them".*

**Skripsi ini saya persembahkan kepada mama, papa dan adik saya tercinta di rumah yang selalu memberi dukungan dan doanya selama kuliah, penelitian dan penyusunan skripsi ini .**



**Thanks to:**

**Pak Mardi dan Mas Indra,** (atas bantuannya selama saya penelitian.)

**Hendrika, Wiwik, Subi en Tatik,** (atas bantuan, dan kerjasamanya selama ini.)

**Sazkya, Agus, Uly en Dewi,** (atas pinjaman petri dan erlenmeyernya.)

**Ruri, Rini, en Vina,** (atas doa, telepon dan sms-smsnya yang memberi dukungan  
, You are truly a friend indeed.)

**T.M. Revolution, L'Arc~en~Ciel, DAI, Miyamoto shunichi, Asian Kungfu Generation,**  
**DII.** atas lagu-lagu kerennya yang menemaniku selama menyusun skripsi.

**~Mada Mada Dane~**

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul : ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KAPANG  
*Aspergillus* spp. DARI SIMPLISIA RIMPANG KUNYIT  
(*Curcuma domestica* Val. )

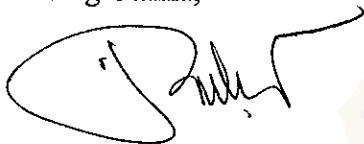
Nama : Retno Rahayu

NIM : J2B000108

Tanggal Lulus Ujian : 7 Juni 2005

Semarang, Juni 2005

Pembimbing Utama,



Dra. MG. Isworo Rukmi, M. Kes  
NIP. 130 989 273

Pembimbing Anggota,



Sri Pujiyanto, S. Si., M. Si.  
NIP. 132 257 832



Jurusan Biologi F. MIPA UNDIP  
Ketua,

Dra. Ir. Retnaningsih S., M.App.Sc  
NIP. 131 835 920

Panitia Ujian Sarjana Jurusan Biologi  
F. MIPA UNDIP  
Ketua,



Dra. Sri Utami, MS  
NIP. 131 672 953

## RINGKASAN

Retno Rahayu, J2B000108. **Isolasi dan Identifikasi Kapang *Aspergillus* spp. dari Simplisia Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.)**  
Di bawah bimbingan M.G. Isworo Rukmi dan Sri Pujiyanto.

Pada dasawarsa ini penggunaan obat tradisional semakin meningkat. Hal ini disebabkan krisis ekonomi yang berkepanjangan menyebabkan harga obat menjadi semakin mahal dan tak terjangkau juga karena dianggap lebih aman. Salah satu tanaman yang banyak digunakan untuk obat tradisional adalah rimpang kunyit, yang pada umumnya dijual dalam bentuk kering dan di tempat terbuka. Kondisi penjualan seperti itu dapat menyebabkan kontaminasi oleh kapang-kapang kontaminan salah satunya *Aspergillus*. Rimpang kunyit memiliki kandungan nutrisi yang baik bagi pertumbuhan *Aspergillus* karena mengandung banyak selulosa dan bahan-bahan lain. Beberapa spesies *Aspergillus* merupakan kapang patogen serta dapat menghasilkan mikotoksin, selain menghasilkan mikotoksin beberapa spesies *Aspergillus* juga dikenal sebagai kapang penghasil enzim antara lain amilase, protease, lipase dan selulase. Berdasarkan hal tersebut maka timbul permasalahan apakah pada rimpang kunyit terdapat kapang *Aspergillus* dan apakah kapang tersebut dapat menghasilkan mikotoksin serta bagaimana aktivitas amilolitik, proteolitik, lipolitik dan selulolitiknya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis kapang *Aspergillus* yang terdapat pada simplisia rimpang kunyit dan kemampuannya dalam menghasilkan mikotoksin serta aktivitas enzimatisnya. Manfaat penelitian ini adalah untuk memberikan informasi tentang jenis-jenis kapang *Aspergillus* yang mampu tumbuh pada simplisia rimpang kunyit dan kemampuannya dalam menghasilkan mikotoksin, sehingga dapat dilakukan upaya pencegahan kontaminasi serta informasi aktivitas enzimatisnya. Metode isolasi yang digunakan adalah *Direct Plating* menggunakan medium TEA (Taoge Ekstrak Agar) yang ditambah kloramfenikol 100 ppm. Isolat kapang *Aspergillus* ditumbuhkan pada medium CDA (*Czapex Dox Agar*) untuk melakukan identifikasi melalui pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik. Deteksi mikotoksin dilakukan dengan melihat fluoresensi yang terjadi di bawah sinar UV. Uji Amilase menggunakan medium Agar amilum, uji lipase menggunakan medium Agar Tributirin, uji protease menggunakan medium gelatin 15% dan uji selulase menggunakan medium Agar CMC.

Dari hasil identifikasi diperoleh 6 isolat *Aspergillus* yaitu, *Aspergillus wentii*, *Aspergillus sulphureus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus awamori* dan *Aspergillus tubingensis*. *A. wentii*, *A. flavus* dan *A. tubingensis* merupakan jenis yang ditemukan di setiap sampel. Berdasarkan hasil pemeriksaan mikotoksin dengan metode yang digunakan tidak terdeteksi adanya mikotoksin. *A. sulphureus* memiliki aktivitas amilolitik, proteolitik dan selulolitik yang paling tinggi, sedangkan aktivitas lipolitik tertinggi dihasilkan oleh *A. parasiticus*.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia serta bimbinganNya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis menyampaikan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu selama penelitian maupun penyusunan skripsi ini.

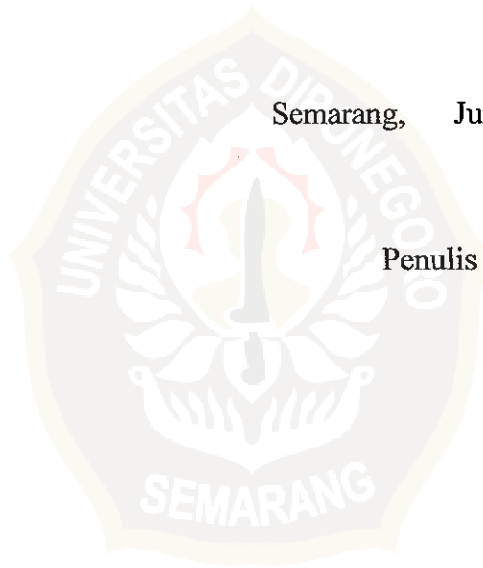
1. Dra. Tri Retnaningsih, M. App. Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Diponegoro,
2. Dr. Endang Kusdiyantini, DEA, selaku Ketua Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro atas ijin penggunaan sarana dan prasarana laboratorium,
3. Dra. MG. Isworo Rukmi, M. Kes, selaku pembimbing utama atas bimbingan, pengarahan dan semangat yang diberikan selama penelitian dan penyusunan laporan,
4. Sri Pujiyanto, S. Si., M. Si., selaku pembimbing pendamping atas kritik, saran dan bimbingan selama penelitian dan penyusunan laporan,
5. Jumari, S. Si., M. Si., selaku dosen wali atas nasehat-nasehat dan bantuannya selama kuliah,
6. Drs. Widjanarko, M. Si., Drs. Budi Rahardjo, M. Si., Dra. Endah Dwi Hastuti, M. Si., selaku dosen penguji pada saat ujian Tugas Akhir,

7. Dra. Sri Utami, MS., Dra. Rini Budi Hastuti, M. Si., selaku panitia ujian Tugas Akhir,
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penelitian dan penyusunan laporan.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan laporan ini masih jauh dari sempurna, untuk itu kritik dan saran sangat penulis harapkan, kiranya skripsi ini bisa bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan bagi semua pihak yang mencintai ilmu Biologi.

Semarang, Juni 2005

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>RINGKASAN</b> .....	iii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iv
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	ix
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	x
 <b>BAB I . PENDAHULUAN</b>	
1. 1. Latar Belakang.....	1
1. 2. Perumusan Masalah.....	3
1. 3. Tujuan .....	3
1. 4. Manfaat.....	4
 <b>BAB II . TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2. 1. Kunyit ( <i>Curcuma domestica</i> Val.).....	5
2. 2. Kapang.....	7
2. 3. Morfologi <i>Aspergillus</i> .....	8
2. 4. Deteksi Kapang.....	10
2. 5. Identifikasi Kapang.....	11
2. 5. 1. Enzim.....	11
2. 5. 2 Mikotoksin.....	13
2. 6. Bahaya <i>Aspergillus</i> .....	15
 <b>BAB III . METODE PENELITIAN</b>	
3. 1. Waktu dan Tempat.....	16
3. 2. Alat dan Bahan	
3. 2. 1. Bahan.....	16
3. 2. 2. Alat.....	16
3. 3. Cara Kerja	
3. 3. 1. Pengambilan Sampel.....	17
3. 3. 2. Isolasi Kapang.....	17
3. 3. 3. Identifikasi Kapang.....	18
3. 3. 4. Deteksi Mikotoksin.....	18
3. 3. 5. Uji Amilolitik.....	19
3. 3. 6. Uji Proteolitik.....	19
3. 3. 7. Uji Lipolitik.....	19
3. 3. 8. Uji Selulolitik.....	20

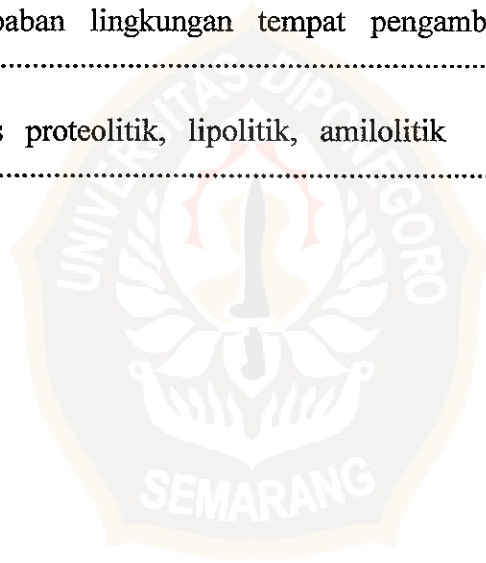
3. 3. 9. Penghitungan Kadar Air.....	20
3. 4. Parameter Pendukung.....	20
<b>BAB IV . HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4. 1. Isolasi dan Identifikasi <i>Aspergillus</i> .....	21
4. 2. Mikotoksin.....	30
4. 3. Aktivitas Enzim.....	33
<b>BAB V . KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5. 1. Kesimpulan.....	36
5. 2. Saran .....	36
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	37
<b>LAMPIRAN</b>	





## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Ciri-ciri spesies <i>Aspergillus</i> yang di isolasi dari rimpang kunyit.....	22
Tabel 2. Distribusi jenis kapang <i>Aspergillus</i> pada empat sampel rimpang kunyit.....	28
Tabel 3. Hasil deteksi mikotoksin spesies-spesies <i>Aspergillus</i> yang di isolasi dari rimpang kunyit.....	30
Tabel 4. Hasil pengukuran kadar air sampel rimpang kunyit.....	42
Tabel 5. Suhu dan kelembaban lingkungan tempat pengambilan sampel.....	42
Tabel 6. Hasil uji aktivitas proteolitik, lipolitik, amilolitik dan selulolitik.....	43



## DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1.	Kunyit ( <i>Curcuma domestica</i> Val.).....	6
Gambar 2.	Struktur morfologi <i>Aspergillus</i> .....	10
Gambar 3.	Koloni spesies-spesies <i>Aspergillus</i> yang di isolasi dari rimpang kunyit kering pada medium CDA (umur tujuh hari).....	23
Gambar 4.	Morfologi spesies-spesies <i>Aspergillus</i> yang di isolasi dari rimpang kunyit kering, 400×.....	24
Gambar 5.	Diagram aktivitas enzimatik spesies-spesies <i>Aspergillus</i> yang di isolasi dari rimpang kunyit.....	30
Gambar 6.	Aktivitas amilolitik <i>aspergillus wentii</i> yang di isolasi dari rimpang kunyit pada medium Agar amilum.....	44
Gambar 7.	Aktivitas lipolitik <i>Aspergillus sulphureus</i> yang di isolasi dari rimpang kunyit pada medium Agar tributirin.....	44
Gambar 8.	Aktivitas proteolitik spesies-spesies <i>Aspergillus</i> yang di isolasi dari rimpang kunyit pada medium Gelatin 15%.....	45
Gambar 9.	Aktivitas selulolitik <i>Aspergillus sulphureus</i> yang di isolasi dari rimpang kunyit pada medium Agar CMC.....	45

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Lembar pengamatan morfologi <i>Aspergillus</i> .....	41
Lampiran 2. Faktor- faktor lingkungan.....	42
Lampiran 3. Pengujian aktivitas enzim spesies-spesies <i>Aspergillus</i> yang di isolasi dari rimpang kunyit.....	43
Lampiran 4. Komposisi medium.....	46



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1. 1. Latar Belakang

Pemanfaatan tanaman untuk kesehatan telah menjadi bagian dari budaya masyarakat yang diturunkan dari generasi ke generasi. Pada dasawarsa ini penggunaan obat tradisional semakin meningkat baik di dalam maupun di luar negeri. Krisis ekonomi yang berkepanjangan menyebabkan harga obat menjadi semakin mahal dan tak terjangkau, terutama bagi masyarakat menengah bawah. Perkembangan ini didukung pula oleh semakin tingginya minat masyarakat pada obat tradisional karena dianggap lebih aman.

Berbagai bagian tanaman dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku atau memiliki fungsi, pengaruh, serta khasiat sebagai obat. Dalam pengertian farmasi Indonesia bagian yang digunakan sebagai obat disebut simplisia. Salah satu simplisia yang banyak digunakan untuk obat tradisional adalah berbagai simplisia rimpang, salah satunya kunyit (*Curcuma domestica* Val.). Pada umumnya simplisia rimpang dijual dalam bentuk kering. Secara tradisional, preparasi penggunaan bagian tanaman sebagai obat sangat sederhana, yaitu dengan mengeringkannya di bawah sinar matahari. Bila akan digunakan, bahan kering tersebut cukup diseduh dengan air mendidih atau air panas. Rimpang kering banyak dijumpai di pasar-pasar tradisional dengan masa simpan yang bervariasi, karena dianggap cukup tahan untuk disimpan dalam waktu yang lama. Waktu penyimpanan yang lama dalam kondisi alami akan meningkatkan kadar air,

sehingga akan mengakibatkan kondisi simplisia cocok untuk pertumbuhan kapang kontaminan terutama kapang xerofilik. Menurut Gandjar (2003) spora kapang banyak terdapat di udara dan bila jatuh pada substrat yang sesuai dan lingkungan mendukung pertumbuhannya, maka kapang mulai memecah substrat.

Rimpang merupakan media yang baik bagi pertumbuhan kapang kontaminan seperti *Aspergillus* karena mengandung banyak selulosa dan bahan-bahan lain yang dapat menjadi sumber nutrisi bagi *Aspergillus*. Beberapa spesies *Aspergillus* merupakan fungi patogen, serta dapat menghasilkan mikotoksin yang dapat bersifat toksigenik, mutagenik, teratogenik dan karsinogenik (Samson, 1992). Mikotoksin dapat dihasilkan selama proses pertumbuhan kapang bila faktor lingkungannya mendukung, kehadiran kapang penghasil toksin pada rimpang membuka kemungkinan adanya mikotoksin pada rimpang yang dikhawatirkan akan ikut terekstrak ketika diseduh dengan air panas.

Selain menghasilkan mikotoksin, beberapa spesies *Aspergillus* juga dikenal sebagai kapang penghasil enzim antara lain : amilolitik, proteolitik, lipolitik dan selulolitik. Kapang *Aspergillus* dikenal sebagai salah satu sumber enzim yang dapat digunakan dalam berbagai bidang industri, karena kapang ini memiliki keragaman sistem enzim dan biokimiawi, sehingga memungkinkan mereka untuk dapat hidup dalam berbagai kondisi lingkungan. Spesies *Aspergillus* yang paling banyak digunakan dalam bidang industri adalah *Aspergillus oryzae* dan *Aspergillus niger* (Berka *et. al.*, 1992).

## 1. 2. Perumusan Masalah

Simplisia rimpang kunyit memiliki potensi sebagai substrat tumbuh *Aspergillus*, karena menyediakan sumber nutrisi yang baik bagi *Aspergillus* seperti karbohidrat dan protein. Pada umumnya simplisia rimpang kunyit untuk bahan jamu di pasar tradisional dijual dalam bentuk kering di tempat terbuka. Hal tersebut dapat meningkatkan kadar air simplisia. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan timbulnya kapang kontaminan antara lain *Aspergillus*. Berdasarkan hal tersebut maka permasalahan yang timbul adalah:

- Apakah pada simplisia rimpang kunyit terdapat kapang *Aspergillus* dan jenis-jenis kapang *Aspergillus* apa saja yang ditemukan.
- Apakah kapang-kapang *Aspergillus* yang tumbuh pada simplisia rimpang kunyit tersebut mampu menghasilkan mikotoksin.
- Bagaimanakah aktivitas kapang-kapang *Aspergillus* tersebut dalam menghasilkan amilase, protease, lipase dan selulase.

## 1. 3. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis kapang *Aspergillus* yang terdapat pada simplisia rimpang kunyit dan kemampuannya dalam menghasilkan mikotoksin serta aktivitas enzimatisnya.

#### 1. 4. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang keragaman kapang *Aspergillus* yang mampu tumbuh pada kunyit bahan jamu kering juga bahaya yang dapat ditimbulkan dengan adanya mikotoksin sehingga dapat diusahakan upaya pencegahan kontaminasi kunyit kering oleh *Aspergillus*. Penelitian ini juga dapat memberikan informasi isolat-isolat *Aspergillus* yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber enzim-enzim penting dalam industri seperti amilase, protease, selulase dan lipase.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2. 1. Kunyit (*Curcuma domestica* Val.)

Kunyit merupakan tanaman rempah dan obat yang termasuk anggota familia Zingiberaceae. Habitat asli tanaman ini meliputi wilayah Asia, khususnya Asia Tenggara (Agharkar, 1991). Tanaman kunyit berupa semak dan bersifat tahunan (perennial) yang tersebar di seluruh daerah tropis. Klasifikasi tanaman kunyit menurut Tjitrosoepomo (2002) adalah sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub-divisi	: Angiospermae
Klas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Curcuma
Species	: <i>Curcuma domestica</i> Val.

Tanaman kunyit tumbuh dengan tinggi 40-100 cm. Batang merupakan batang semu, tegak, bulat, membentuk rimpang dengan warna hijau kekuningan dan tersusun dari pelepah daun (agak lunak). Daun tunggal, bentuk bulat telur (lanset) memanjang dengan Rimpang kunyit berbentuk bulat atau jorong Warna rimpang bagian luar coklat muda, sedangkan bagian dalam berwarna coklat muda kemerahan. Kunyit mengandung protein (6,3%), lemak (5,1%), pati (69,4%) , kurkumin (3-4%) dan minyak essensial (5,8%). Kurkumin memiliki kemampuan



sebagai anti bakteri, anti amoeba, anti oksidan, anti tumor dan anti karsinogenik (Chattopadhyay *et al.*, 2004).



Gambar 1. Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) a. Tanaman kunyit; b. Rimpang kunyit.

Pembuatan kunyit kering melalui beberapa tahapan yaitu, pencucian yang bertujuan untuk memperoleh simplisia yang bersih dan bebas dari kotoran. Pengolahan hasil (pengupasan kulit serta pengirisan) bertujuan untuk memudahkan proses pengeringan dan pengepakan. Pengeringan dapat dilakukan dengan sinar matahari atau alat pemanas (oven). Pengeringan dilakukan selama 3-5 hari atau setelah kadar airnya dibawah 8% (Bappenas, 2002).

Manfaat utama tanaman kunyit, antara lain: sebagai bahan obat tradisional, bahan baku industri jamu dan kometik, dan bahan bumbu masak, di daerah Jawa kunyit banyak digunakan sebagai ramuan jamu, disamping itu rimpang tanaman kunyit itu juga bermanfaat sebagai anti inflamasi, anti oksidan, pencegah kanker, anti tumor, dan menurunkan kadar lemak darah dan kolesterol, serta sebagai pembersih darah ( Bappenas, 2002).

## 2. 2. Kapang

Menurut Alexopoulos *et al.* (1996) kapang memiliki ciri-ciri sebagai berikut: eukariotik, menghasilkan spora, tidak berklorofil, berbentuk hifa, reproduksi secara seksual dan aseksual, cara mendapatkan nutrisinya secara absorpsi, memiliki dinding sel dari kitin atau selulosa. Sebagian besar tubuh kapang terdiri atas benang-benang yang disebut hifa, yang saling berhubungan menjalin semacam jala yaitu miselium (Gandjar *et al.*, 1999). Kapang memiliki struktur reproduksi yang berbeda dengan struktur somatiknya dan memiliki bentuk yang beragam sehingga menjadi dasar dalam klasifikasi kapang .

Kapang memiliki kemampuan untuk menggunakan berbagai macam sumber karbon sebagai nutrisinya. Pertumbuhan kapang dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain : kelembaban, suhu, pH dan oksigen. Kapang dapat hidup pada suhu 0-35 °C, suhu optimum untuk pertumbuhan kapang adalah 25-30 °C, dengan kisaran pH 2-8,5, pH optimumnya adalah 4-7. Mayoritas kapang bersifat aerob, namun ada beberapa spesies yang bersifat anaerob fakultatif (Alexopoulos *et al.*, 1996; Handayani dan Sulisty, 2000). Kapang dapat hidup pada suhu dan kelembaban yang sangat bervariasi, misalnya *Aspergillus flavus* tahan hidup pada suhu 37 °C, sedangkan *Aspergillus nidulans* pada suhu 40 °C. Kapang dapat tumbuh pada kelembaban antara 85% sampai 90%, tetapi ada spesies kapang yang dapat hidup sampai kelembaban 65% (Handayani dan Sulisty, 2000).

Kapang dapat ditemukan pada aneka substrat dan tidak sulit menemukan kapang di alam, karena bagian vegetatifnya yang umumnya berupa miselium

berwarna putih mudah terlihat pada substrat yang membusuk. Konidianya atau tubuh buahnya dapat mempunyai aneka warna yaitu, merah, hitam, jingga, kuning, krem, putih, abu-abu, coklat, kebiru-biruan, dan sebagainya. Tubuh buah kapang lebih mencolok karena langsung dapat dilihat dengan mata kasat, sedangkan miselium vegetatif yang menyerap makanan hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop (Gandjar *et al.*, 1999).

### 2. 3. Morfologi *Aspergillus*

Menurut Alexopoulos *et al.* (1996), taksonomi *Aspergillus* adalah sebagai berikut :

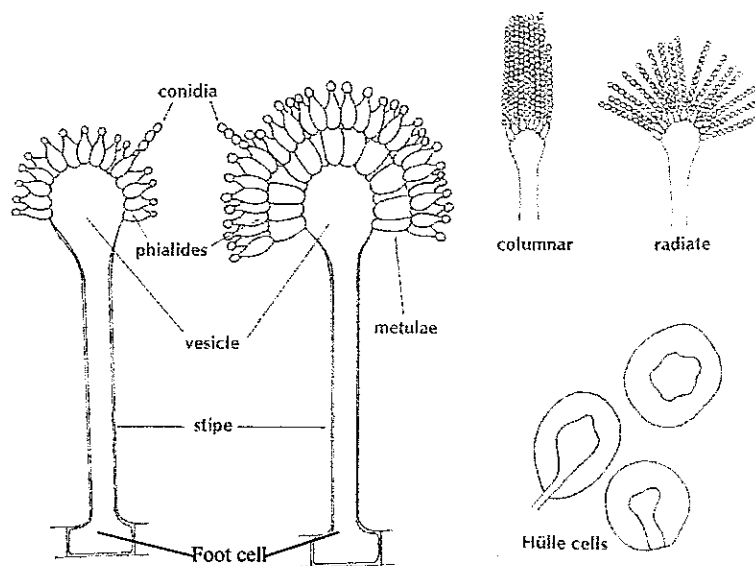
Kingdom	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Klas	: Ascomycetes
Ordo	: Eurotiales
Famili	: Trichocomaceae
Genus	: <i>Aspergillus</i>

Koloni *Aspergillus* tumbuh cepat dan umumnya berwarna putih, kuning, kuning-coklat, coklat sampai hitam dan hijau (Samson, *et al.*, 2004). Struktur tubuh *Aspergillus* (Gambar 2.) dicirikan dengan adanya phialid dengan konidia yang tersusun seperti rantai. Phialidnya berbentuk seperti botol (Gams *et al.*, 1987). Pada saat masih muda miselium *Aspergillus* memproduksi banyak sekali konidiofor. Biasanya konidiofor (*stipe*) muncul dari hifa somatik. Konidiofor pada *Aspergillus* umumnya tidak bersepta (Samson *et al.*, 2004).

Ruangan hifa atau sel yang bercabang untuk membantu perkembangan konidiofor disebut sel kaki (Alexopoulos *et al.*, 1996).

Bila sudah tua sel kaki (*foot cell*) bisa berlekuk dan membelit, sehingga hubungannya dengan hifa vegetatif tidak terlihat jelas dan sulit untuk dikenali. Sel kaki juga bisa tenggelam dalam substrat atau muncul dari hifa udara (Raper and Fennel, 1965).

Perkembangan sempurna konidiofor adalah struktur yang panjang, lurus, masing-masing berakhir pada suatu sel bulat yang disebut vesikel (Alexopoulos *et al.*, 1996). Pada vesikel, phialid dapat muncul langsung (*uniseriate*) atau juga dibentuk dalam alur radial diatas metula (*biseriate*) (Gams *et al.*, 1987). Menurut Samson *et al.* (2004) konidia tersusun dalam bentuk rantai berupa kolom yang kompak (*kolumnar*) atau tersebar (*radial*). Beberapa spesies *Aspergillus* ada yang memiliki *Hulle cells* yang merupakan suatu struktur yang terbentuk dari kumpulan jaringan hifa yang bebas membentuk sel-sel terminal dan interkalar berbentuk *elliptical* atau *globbose* dengan dinding yang sangat tebal (Raper and Fennel, 1965).



Gambar 2. Struktur Morfologi *Aspergillus* (Samson *et al.*, 2004)

*Aspergillus* dapat tumbuh pada suhu 4-48 °C dengan temperatur optimum untuk sporulasi 23-26 °C (Raper and Fennel, 1965). pH optimum untuk pertumbuhan *Aspergillus* adalah 5,5-7,0. Kebanyakan *Aspergillus* tumbuh baik pada kelembaban relatif 80%-95% (Moreau, 1979).

## 2. 4. Deteksi Kapang

Menurut Samson *et al.* (2004), deteksi kapang dapat dilakukan dengan tiga metode yaitu: *direct examination*, *direct plating* dan *dilution plating*. Teknik *direct examination* dilakukan pada bahan yang telah ditumbuhi kapang, kapang langsung diisolasi dan diidentifikasi dengan menggunakan mikroskop. Teknik *direct plating* merupakan metode yang paling efektif untuk pemeriksaan kapang-kapang kontaminan pada bahan pangan, sedangkan *dilution plating*

merupakan teknik yang paling baik digunakan untuk pemeriksaan kapang secara kuantitatif.

## 2. 5. Identifikasi Kapang

Identifikasi dapat dilakukan dengan pengamatan terhadap morfologi kapang *Aspergillus* secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan koloni kapang meliputi: warna, diameter, tekstur, *Reverse of colony*, *Radial Furrows*, *Growing Zone*, sklerotia dan *exudate drop*. Pengamatan mikroskopis meliputi: Kepala Konidia (bentuk); Konidia (Bentuk, Ukuran, Permukaan, Susunan dan Warna); sterigmata (Susunan dan Ukuran); Vesikel (Bentuk dan Ukuran); Konidiofor (Warna, Permukaan, Panjang dan Diameter). Hasil pengamatan digunakan untuk melakukan identifikasi. Identifikasi juga dapat dilakukan dengan pengamatan sifat fisiologi dan biokimiawi kapang (Gandjar, 1999). Selain morfologi sifat lain yang sering digunakan dalam identifikasi *Aspergillus* adalah kemampuan menghasilkan enzim dan mikotoksin (Samson, 1992a).

### 2. 5. 1. Enzim

Enzim merupakan protein biokatalisator, yang digunakan oleh sel dalam beberapa proses metabolis. Penggunaan enzim mikrobial telah dilakukan sejak ribuan tahun lalu (Frazier and Westhoff, 1988). Enzim mikrobial sangat penting peranannya dalam bidang industri, termasuk industri makanan, minuman, kertas dan tekstil (Post, 1992).

Adanya perkembangan dalam bidang teknologi fermentasi menyebabkan mikroba menjadi sumber enzim yang tak terbatas (Post, 1992). Beberapa enzim penting bernilai komersial yang diproduksi dalam skala besar, antara lain : amilase, protease, selulase dan lipase (Brock and Madigan, 1991).

Kapang *Aspergillus* memiliki keragaman sistem enzim dan biokimiawi sehingga mereka dapat bertahan hidup dalam berbagai kondisi lingkungan. Mereka juga dikenal sebagai sumber berbagai macam enzim yang dapat digunakan dalam industri (Berka *et al.*, 1992). Beberapa enzim penting yang dapat dihasilkan *Aspergillus* antara lain: amilase, protease, lipase dan selulase.

Amilase, merupakan enzim yang mendegradasi pati. Enzim ini merupakan enzim yang paling banyak digunakan dalam industri. Terdapat 3 tipe amilase, yaitu :  $\alpha$ -amilase, yang memecah pati menjadi oligosakarida, maltosa dan glukosa,  $\beta$ -amilase yang memecah pati menjadi dekstrin, maltosa dan glukosa, dan glukoamilase yang memecah pati menjadi glukosa (Post, 1992)

Amilase banyak digunakan dalam industri roti, sirup, kecap, miso, sake dan produk-produk fermentasi lain. Spesies *Aspergillus* yang menghasilkan amilase antara lain : *Aspergillus oryzae* dan *Aspergillus niger* (Berka *et al.*, 1992).

Protease adalah enzim yang berperan dalam proses hidrolisis protein. Protease merupakan enzim yang sangat penting dalam kehidupan organisme, oleh karena itu protease dapat diperoleh dari tanaman, hewan dan mikroorganisme (Rao, *et al.*, 1998).

Protease, utamanya digunakan dalam industri makanan, deterjen, dan tekstil (Rao, *et al.*, 1998). Protease yang dihasilkan oleh spesies-spesies *Aspergillus* dapat dikelompokkan berdasarkan pH optimalnya (Protease asam, protease netral, dan protease basa). Spesies-spesies *Aspergillus* yang menghasilkan protease antara lain : *Aspergillus niger* grup, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus oryzae* dan *Aspergillus nidulans* (Berka *et al.*, 1992).

Lipase adalah enzim yang bekerja dalam proses hidrolisis lipid. Enzim lipolitik menghidrolisis trigliserida, menghasilkan asam lemak bebas (Walsh and Headon, 1994). Beberapa spesies *Aspergillus* yang menghasilkan enzim ini adalah : *Aspergillus awamori*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus japonicus*, dan *Aspergillus sydowii* (Berka *et al.*, 1992).

Selulosa dapat dihidrolisis oleh enzim selulase yang dihasilkan oleh mikrobia agar dapat digunakan sebagai sumber karbon dan energi khususnya dalam bentuk glukosa. Dalam industri Selulase digunakan untuk pengolahan limbah dalam pembuatan bir dan kecap dan untuk meningkat rasa dan aroma. Spesies *Aspergillus* yang menghasilkan selulase antara lain adalah *A. niger*, *A. wentii*, *A. nidulans* dan *A. oryzae* (Berka *et al.*, 1992).

## 2. 5. 2. Mikotoksin

Mikotoksin adalah metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang yang dapat menyebabkan penyakit dan kematian pada manusia dan hewan (Bennett and Klich, 2003). Mikotoksin umumnya merupakan molekul kecil dengan struktur kimia yang bervariasi (Samson, 1992b).



Hampir semua kapang pengkontaminan makanan menghasilkan mikotoksin. Tiga genera kapang yaitu *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Fusarium* merupakan kapang kontaminan sekaligus produsen mikotoksin yang penting. Mikotoksin merupakan senyawa yang stabil dan tidak dapat diuraikan dengan pemanasan (Jacobson, 1993; Northolt *et al.*, 1995).

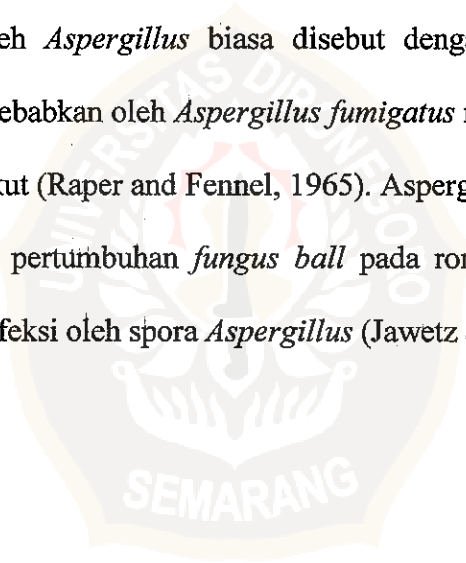
Aflatoksin merupakan mikotoksin yang paling dikenal, namun *Aspergillus* juga mensintesis beberapa mikotoksin lain seperti sterigmatocystin, ochratoksin dan *cyclopiazonic acid* (Linz and Petska, 1992). Pada awalnya kapang *Aspergillus* yang bersifat toksik membentuk koloni pada bahan pangan yang disimpan, ketika kelembaban dan substratnya cocok untuk pertumbuhannya, maka kapang tersebut akan tumbuh diikuti dengan pembentukan mikotoksin yang kemudian dilepaskan ke dalam bahan pangan tersebut. Mikotoksin biasanya menyerang organ atau sistem organ tertentu seperti hati dan ginjal (Pier and Richard, 1992).

Penentuan keberadaan mikotoksin tergantung dari sifat fisiko-kimia dari mikotoksin. Beberapa mikotoksin, misalnya aflatoksin dapat ditunjukkan dengan sinar ultra violet (UV) dengan panjang gelombang 365 nm. Menurut Van Egmond (2004) teknik lain yang digunakan untuk penentuan keberadaan mikotoksin antara lain *Thin Layer Chromatography* (TLC), *Gas Liquid Chromatography* (GLC), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan *Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay* (ELISA).

## 2. 6. Bahaya *Aspergillus*

Kemampuan *Aspergillus* untuk tumbuh pada berbagai macam substrat dan dalam berbagai kondisi lingkungan menyebabkan beberapa dari mereka mampu hidup dan membentuk koloni pada jaringan hewan yang sudah mati ataupun yang masih hidup. Kemampuan mereka untuk tumbuh pada jaringan hidup telah menimbulkan berbagai jenis penyakit pada manusia dan hewan berdarah dingin. Telah banyak penelitian menunjukkan kemampuan *Aspergillus* menyerang hampir semua organ tubuh, namun yang paling sering ditemukan adalah pada saluran pernapasan (Raper and Fennel, 1965)

Infeksi paru-paru oleh *Aspergillus* biasa disebut dengan aspergillosis. Aspergillosis yang utama disebabkan oleh *Aspergillus fumigatus* merupakan suatu infeksi saluran pernapasan akut (Raper and Fennel, 1965). Aspergillosis paru-paru dapat terjadi karena adanya pertumbuhan *fungus ball* pada rongga pernapasan yang sebelumnya sudah terinfeksi oleh spora *Aspergillus* (Jawetz *et al.*, 1991).



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3. 1. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiogenetika Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Diponegoro dari bulan Juni 2004 sampai Maret 2005.

#### **3. 2. Alat dan Bahan**

##### **3. 2. 1. Bahan**

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain: Sampel rimpang kunyit, medium Taoge Extract Agar (TEA), medium Potato Dextrose Agar (PDA), medium Czapek's Dox Agar (CDA), Akuades, Alkohol 70%, "laktophenol cotton blue", spiritus, minyak emersi, kloramfenikol 100 ppm, medium "Tributyryn agar", gelatin, medium Agar amilum, medium Agar CMC, I<sub>2</sub>KI.

##### **3. 2. 2. Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, labu erlenmeyer, gelas ukur, batang pengaduk, corong, lampu spiritus, kaca obyek, kaca penutup, jarum ose, pinset, gunting, pipet tetes, mikroskop cahaya, jangka sorong, mikrometer, botol timbang, termometer, lampu UV, autoklaf, neraca analitik, dan oven.

### 3. 3. Cara Kerja

#### 3. 3. 1. Pengambilan Sampel

Kunyit bahan jamu kering yang digunakan sebagai sampel diperoleh dari empat tempat penjualan yang berbeda yaitu: A (Pasar Peterongan), B (Pasar Johar), C (Pasar Karang Ayu) dan D (Toko Jamu). Masing-masing sampel dimasukkan dalam kantong plastik dan diberi label yang mencantumkan nama, tanggal, dan tempat pengambilan sampel (Kuswanto dkk., 1989).

#### 3. 3. 2. Isolasi Kapang

Isolasi dilakukan dengan metode langsung (*direct plating*). Tiga potong sampel rimpang kunyit diletakkan pada cawan petri yang telah berisi medium TEA yang mengandung kloramfenikol 100 ppm, dilakukan secara triplo. Cawan-cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama tujuh hari hari, setiap dua puluh empat jam pertumbuhan kapang diamati. Kapang yang tumbuh di permukaan rimpang kunyit diisolasi sehingga diperoleh biakan murni. Isolat kapang *Aspergillus* selanjutnya dipindahkan ke medium CDA untuk identifikasi lebih lanjut (Samson, 2004).

### 3. 3. 3. Identifikasi Kapang

Identifikasi dilakukan dengan pengamatan terhadap morfologi kapang *Aspergillus* secara makroskopik dan mikroskopik (Lampiran 1.). Pengamatan koloni kapang meliputi: warna, diameter, tekstur, *Reverse of colony*, *Radial Furrows*, *Growing Zone* dan *Exudate Drop*. Pengamatan mikroskopis meliputi : Kepala konidia (Bentuk); Konidia (Bentuk, Ukuran, Permukaan, Susunan dan Warna); Phialid dan metula ( Susunan dan Ukuran); Vesikel (Bentuk dan Ukuran); Konidiofor (Warna, Permukaan, Panjang dan Diameter) dan struktur tambahan yaitu : sklerotia, *hulle cells* dan kleistotesium (Raper and Fennel, 1965). Hasil pengamatan digunakan untuk melakukan identifikasi menurut kunci identifikasi Raper and Fennel (1965); Klich (2002) dan Samson *et al.* (2004).

### 3. 3. 4. Deteksi Mikotoksin

Masing-masing sampel secara terpisah diletakkan pada cawan petri yang telah diberi alas tiga lembar kertas saring lembab, kemudian diinokulasikan isolat *Aspergillus*. Inkubasi dilakukan selama dua minggu pada suhu ruang. Sediaan ini selanjutnya disinari dengan sinar UV, fluoresensi yang terjadi diamati. Jika fluoresensi sukar diamati sampel dibilas dengan air hingga kapangnya tercuci. Fluoresensi diamati setelah sampel dikeringkan dalam oven dengan suhu 60 °C (Dharmaputra, 1988).

### 3. 3. 5. Uji Amilolitik

Isolat kapang *Aspergillus* dari medium PDA miring berumur lima hari sebanyak kurang lebih satu ose diinokulasikan pada medium agar amilum dalam cawan petri, diinkubasi pada suhu ruang (27 °C) selama empat hari. Selanjutnya ke dalam biakan ditetesi dengan larutan iodin secara merata. Terjadinya hidrolisis amilum dapat diketahui dengan pengukuran zona hidrolisis (Brock and Madigan, 1991).

### 3. 3. 6. Uji proteolitik

Isolat kapang dari media PDA miring berumur lima hari sebanyak kurang lebih satu ose diinokulasikan pada media gelatin 15% dalam tabung reaksi, diinkubasi pada suhu ruang selama kurang lebih lima hari. Reaksi positif ditandai dengan cairnya gelatin pada suhu 4 °C (Brock and Madigan, 1991).

### 3.3. 7. Uji Lipolitik

Isolat kapang *Aspergillus* pada medium PDA miring berumur lima hari sebanyak kurang lebih satu ose diinokulasikan pada media Tributyrin Agar dalam cawan petri, diinkubasi pada suhu ruang (27 °C) selama kurang lebih tujuh hari. Diamati adanya zona bening disekitar koloni, diukur diameter koloni dan zona bening (Smith and Haas, 1992).

### 3. 3. 8. Uji Selulolitik

Isolat kapang *Aspergillus* pada medium PDA miring berumur lima hari diinokulasikan pada medium Agar CMC dalam cawan petri, diinkubasi pada suhu ruang (27 °C) selama kurang lebih enam hari, selanjutnya ditetesi dengan larutan, I<sub>2</sub>KI secara merata. Terjadinya hidrolisis selulase dapat diketahui dengan pengukuran zona hidrolisis (Doran, 2004).

### 3. 3. 9. Penghitungan Kadar Air

Rimpang dikeringkan dalam oven pada suhu 105-110 °C selama 2 jam atau sampai beratnya konstan. Selisih berat sebelum dan sesudah pengeringan adalah banyaknya air yang diuapkan (Winarno, 1992). Kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{Berat awal} - \text{Berat kering}}{\text{Berat Awal}} \times 100 \%$$

### 3. 4. Parameter Pendukung

Parameter pendukung yang diamati pada penelitian ini adalah :

1. Suhu lingkungan tempat pengambilan sampel (°C)
2. Kadar air sampel (%)
3. Kelembaban relatif lingkungan tempat pengambilan sampel (%)

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4. 1. Isolasi dan Identifikasi *Aspergillus*

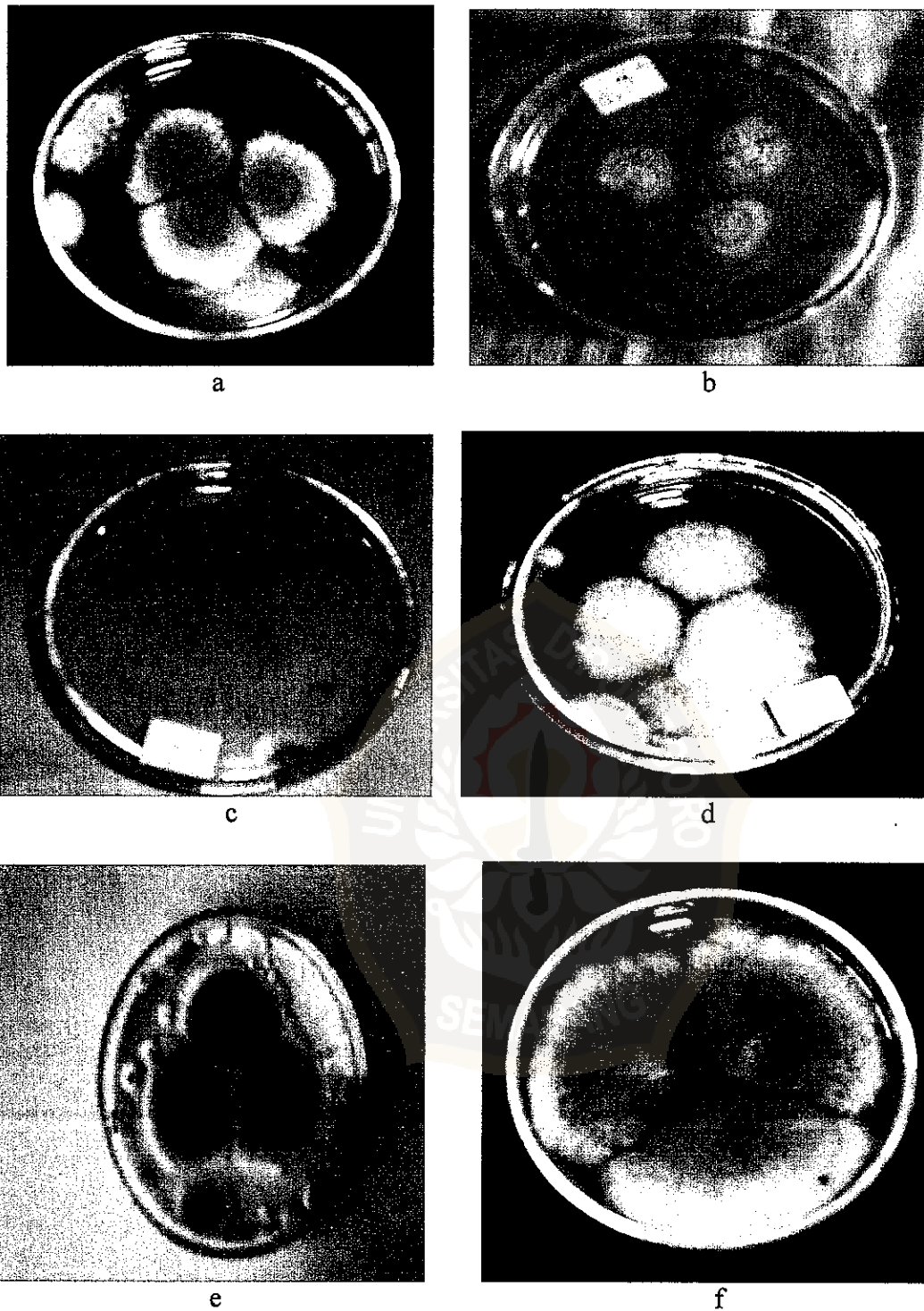
Berdasarkan hasil identifikasi terhadap isolat-isolat *Aspergillus* yang ditemukan diperoleh enam spesies *Aspergillus* yaitu, *A. wentii*, *A. sulphureus*, *A. parasiticus*, *A. flavus*, *A. awamori* dan *A. Tubingensis* (Tabel 1.), koloni dan morfologi spesies-spesies tersebut dapat dilihat pada Gambar 3. dan Gambar 4.. *Aspergillus* termasuk jenis kapang kontaminan yang umum dijumpai, kapang ini mampu tumbuh pada berbagai macam substrat dan dalam berbagai kondisi lingkungan termasuk pada substrat dengan kadar air yang rendah (Samson *et al.*, 2004).

Berdasarkan ciri-ciri morfologi yang ditemukan, isolat 1 diidentifikasi sebagai *Aspergillus wentii*. *A. wentii* merupakan kapang kosmopolit (Raper and Fennel, 1965). Menurut Samson *et al.* (2004) spesies ini dapat ditemukan hampir di seluruh jenis tanah, terutamanya di daerah tropis, sehingga kehadiran kapang ini pada rimpang kunyit kering dapat dimengerti. Hal ini didukung dengan kondisi fisik lingkungan tempat sampel yang memiliki suhu 30-31 °C dan kelembaban relatif 65-72%, menurut Klich *et al.* (1992) *A. wentii* tidak dapat tumbuh pada suhu 37 °C. *A. wentii* memiliki beberapa spesies sinonim yaitu :*A. archaeoflavus* Blochwitz, *A. gigas* Spegazzini, *A. wentii* mut *alba* Mosseray, *A. wentii* var *minimus* Nakada (Raper and Fennel, 1965). *A. wentii* dapat menghambat pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Domsch *et al.*, 1980).

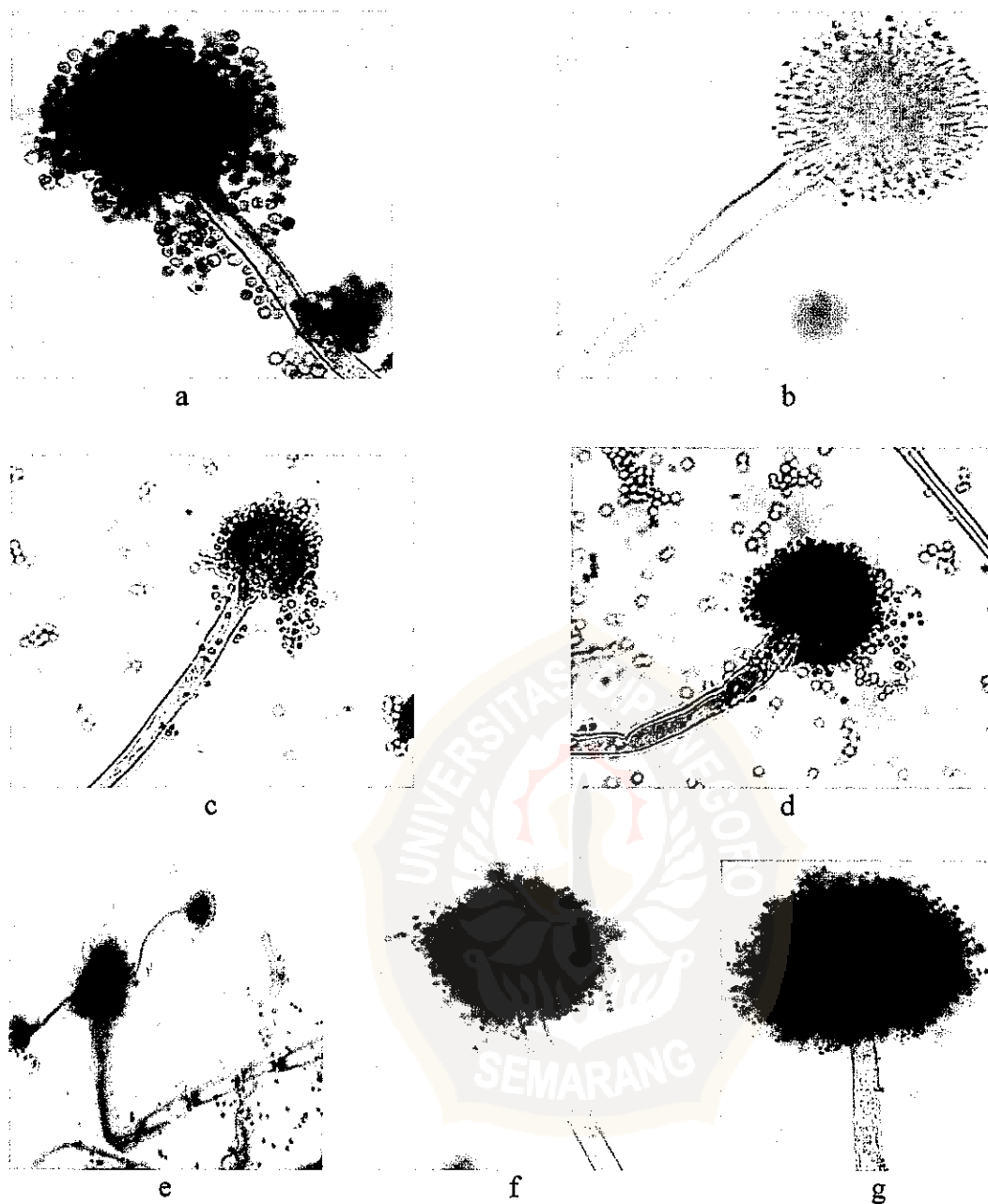


Tabel 1. Ciri-ciri spesies *Aspergillus* yang di isolasi dari rimpang kunyit

PENGAMATAN	Isolat 1	Isolat 2	Isolat 3	Isolat 4	Isolat 5	Isolat 6
<b>Koloni pada CDA (7 hr)</b>						
Warna koloni	kuning coklat	kuning pucat	kuning-hijau	kuning-hijau	Coklat kehitanan	Hitam kecoklatan
Diameter koloni (cm)	2,82 – 3,44	1,99 – 2,32	3,65-4,03	2,62-3,20	3,85-5,35	3,66-5,47
tekstur koloni	Granulaty kasar	granulaty	Granulaty halus	Granulaty halus	Granulaty	Granulaty
Reverse of colony'	coklat	"uncolored"	coklat	coklat	"uncolored"	"uncolored"
Radial Furrows'	-	-	-	-	-	-
Growing zone'	+	+	-	-	+	-
Exudate drop	-	-	+	+	-	+
<b>Konidia</b>						
Bentuk	Elips, globbose, subglobbose	globbose	globbose	globbose	globbose	globbose
Warna	coklat	hyaline	Hijau-kuning	hijau-kuning	Coklat	Coklat hitam
Ukuran ( $\mu$ )	2,5 - 5	2,5-5	2,5-5	2,5-5	2,5-7,5	2,5-7,5
Permukaan	kasar	kasar	kasar	kasar	Halus	kasar
Susunan	radiat	radiat	radiat	radiat	radiat	radiat
<b>Kepala Konidia</b>						
Bentuk	Loosely radiat	Radiat	radiat	radiat	radiat	Loosely-rad
<b>Phialid</b>						
Ukuran metula ( $\mu$ )	10-15x5-7,5	7,5-10x2,5-5	-	7,5-15x2,5-4	7,5-12x3-4	7,5-25x2,5-4
Susunan	Uni-biseriate	biseriate	uniseriate	Uni-biseriate	biseriate	biseriate
Ukuran phialid ( $\mu$ )	7,5-15x2,5-3,75	7,5-12,5x2,5-5	7,5-12,5x2,5-4	7,5-12,5x2,5-3,75	12,5-17,5x3-4	7,5-15x3-4
<b>Vesikel</b>						
Bentuk	globbose	globbose	globbose	globbose	globbose	subglobbose, globbose
Diameter ( $\mu$ )	35-40	20-30	30-35	30-35	30-45	45-80
<b>Konidiofor</b>						
Warna	hyaline	hyaline	hyaline	hyaline	hyaline	hyaline
Permukaan	halus	kasar	kasar	kasar	halus	halus
Panjang	1,05-1,25 mm	712,5-2662,5 $\mu$	850-1050 $\mu$	300-895 $\mu$	525-1320 $\mu$	1,3-3,9 mm
Diameter ( $\mu$ )	12,5-15	12,5-15	10-20	10-20	12,5-20	12,5-20
<b>Struktur tambahan</b>						
Sklerotia	-	+	-	-	+	-
"Hulle cells"	-	-	-	-	-	-
Kleistotestium	-	-	-	-	-	-
Askospora	-	-	-	-	-	-
<b>NAMA SPECIES</b>	<i>A. wentii</i>	<i>A. sulphureus</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. awamori</i>	<i>A. tubingensis</i>



Gambar 3. Koloni spesies-spesies *Aspergillus* yang di isolasi dari rimpang kunyit pada medium CDA (umur tujuh hari); a. *A. wentii*; b. *A. sulphureus*; c. *A. parasiticus*; d. *A. flavus*; e. *A. awamori*; f. *A. tubingensis*.



Gambar 4. Morfologi spesies-spesies *Aspergillus* yang di isolasi dari rimpang kunyit, 400x; a. *A. wentii*; b. *A. sulphureus*; c. *A. parasiticus*; d. *A. flavus* normal; e. *A. flavus* abnormal; f. *A. awamori*; g. *A. tubingensis*.

Berdasarkan pengamatan ciri-ciri morfologinya isolat 2 diidentifikasi sebagai *Aspergillus sulphureus*. Raper and Fennel (1965) melaporkan bahwa *A. sulphureus* memiliki penyebaran yang luas dan telah diisolasi dari tanah di berbagai belahan bumi sehingga dimungkinkan terdapatnya kapang tersebut pada rimpang kunyit kering. Faktor lain yang mendukung kehadiran kapang ini pada rimpang kunyit kering adalah kondisi fisik lingkungan tempat pengambilan sampel yang memiliki suhu 30-31 °C dan kelembaban relatif 65-72%, *A. sulphureus* termasuk dalam kelompok *Aspergillus ochraceus*, menurut Klich *et al.* (1992) kelompok kapang ini dapat tumbuh pada kisaran suhu 12-37 °C. Klich (2002) melaporkan bahwa *A. sulphureus* dapat diisolasi dari kotoran hewan, sayuran, bahan makanan yang disimpan dan udara, Kapang ini merupakan salah satu mikoflora pada proses pembusukan. Sinonim spesies ini adalah :*Sterigmatocystis sulphurea* Fres (Raper and Fennel, 1965).

Isolat 3 diidentifikasi sebagai *Aspergillus parasiticus* (Raper and Fennel, 1965). *A. parasiticus* dicirikan dengan sterigma yang tersusun *uniseriate* dan konidia yang tersusun radial (Samson *et al.*, 1995). Menurut Domsch *et al.* (1980) kapang ini telah banyak diisolasi dari tanah di berbagai negara terutama di daerah tropis dan subtropis, maka hadirnya kapang tersebut pada rimpang kunyit sangat dimungkinkan. *A. parasiticus* juga ditemukan pada beras, kacang tanah, bahan pangan, biji kemiri, dan pada berbagai jenis serangga. Faktor fisik lingkungan juga sangat mendukung kehadiran kapang ini, *A. parasiticus* ditemukan pada sampel B yang memiliki suhu lingkungan 31 °C, menurut Domsch *et al.* (1980) suhu optimum untuk pertumbuhan *A. parasiticus* adalah 30 °C. *A. parasiticus*

memiliki beberapa sinonim yaitu: *A. chungii* Shih, *A. flavus* var *viridis* Blochwitz, *A. parasiticus* f. *Sojae* (Saka and Yam.) Nehira, *A. sojae* Sakaguchi and Yamada. Spesies ini menghasilkan antibiotik parasitacin yang hampir sama dengan penicillin (Domsch *et al.*, 1980; Raper and Fennel, 1965).

Berdasarkan pengamatan ciri-ciri morfologinya Isolat 4 diidentifikasi sebagai *Aspergillus flavus*. *A. flavus* merupakan kapang yang paling umum ditemukan sebagai kontaminan pada makanan, memiliki penyebaran yang sangat luas diseluruh dunia, tetapi paling banyak ditemukan di daerah tropik dan subtropik (Raper and Fennel, 1965), sehingga kehadiran kapang ini pada rimpang kunyit kering sangat mungkin terjadi. Hal tersebut di dukung oleh kondisi fisik lingkungan tempat pengambilan sampel yang memiliki suhu 30-31 °C dan kelembaban relatif lingkungan 65-72%, *A. flavus* tumbuh optimal pada rentang suhu 25-42 °C, dengan suhu minimum 17-19 °C dan suhu maksimum 47-48 °C , pH optimal untuk pertumbuhan *A. flavus* adalah 7,5 (Domsch *et.al*, 1980). Banyak galur kapang ini yang diisolasi dari daerah-daerah yang ekstrim seperti Antartika, daerah dengan ketinggian 4000 m, dan daerah ekstrim kering di Chille. Menurut Raper and Fennel (1965) *A. flavus* umumnya diisolasi dari biji-bijian, sereal, bahan-bahan yang telah membusuk dan tanah. Sinonim spesies ini antara lain adalah : *Eurotium Aspergillus flavus* De Barry and Woronin, *A. fasciculatum*, *A. flavus* var *japonica*, , *A. flavus* var *wehmeri* (Cost and Lucet) Bloch, *A. humus* Abbot, *A. luteus* (Van Tiegh.) Dodge, *A. nolting* Hallier, *A. oryzae* var *magnosporus* Yamamoto, *A. oryzae* var *sake*, *A. pollinis* Howard, *A. soya* dan *A. uchmeri* Costantin and Lucet (Raper and Fennel,1965). Pada isolat *A. flavus*

yang ditemukan pada rimpang kunyit kering bila ditumbuhkan pada suhu 27 °C, terdapat morfologi yang mengalami abnormalitas, yaitu membentuk percabangan pada vesikelnya sehingga muncul beberapa *conidial head* dengan ukuran yang lebih kecil (Gambar 4e), tetapi bila diinkubasi pada suhu 37 °C morfologi abnormal tidak muncul. Menurut Moreau (1979) pembentukan *conidial head* pada *Aspergillus* dapat dipengaruhi oleh konsentrasi gula dan suhu inkubasi, misalnya *A. manginii* memiliki morfologi normal pada medium CDA yang mengandung 1200 gram glukosa per liter dan suhu inkubasi 33 °C, tetapi memiliki morfologi khusus pada kondisi lain. Proliferasi pialid terjadi pada medium yang mengandung 400 gram glukosa per liter dan suhu inkubasi 33 °C, sedangkan pada medium yang mengandung 2000 gram glukosa per liter dan suhu inkubasi 27 °C vesikel tidak membesar dan hanya terdapat dua fialid pada kepala konidianya

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi Isolat 5 dan 6 diidentifikasi sebagai *Aspergillus awamori* dan *Aspergillus tubingensis*, yang termasuk dalam kelompok *Aspergillus niger* (Raper and Fennel, 1965). Kelompok kapang ini memiliki penyebaran yang paling luas dibandingkan kelompok-kelompok lainnya, menyebabkan kerusakan pada bahan makanan dan biodetoriasasi materi lain. Domsch *et al.* (1980) menyatakan spesies ini banyak terdapat pada tanah di daerah tropik dan subtropik, dapat tumbuh pada berbagai jenis substrat seperti biji-bijian, pakan ternak, sayuran dan buah, tekstil dan serat, kulit dan produk-produk dari susu, sehingga kehadiran kapang ini pada rimpang kunyit kering sangat mungkin terjadi. Kehadiran kedua kapang tersebut pada rimpang kunyit juga didukung oleh kondisi fisik lingkungan tempat pengambilan sampel yang



memiliki suhu 30-31 °C dan kelembaban relatif lingkungan 65-72%, suhu optimum pertumbuhan kelompok kapang ini adalah 17-42 °C, minimum 11-13 °C dan maksimum 47-48 °C (Domsch *et al.*, 1980). Sinonim dari *A. awamori* adalah, *A. awamori* Usami, *A. pseudo-citricus* Mosseray, *A. pseudo-niger* Mosseray, *Sterigmatocystis pseudo-nigra* Cost and Lucet dan *A. miyakoensis* Nakazawa, sedangkan sinonim *A. tubingensis* antara lain *Aspergillus niger* forma *Tuebingien* dan *A. atropurpureus* (Raper and Fennel, 1965). *A. awamori* banyak digunakan dalam bidang industri terutama dalam pembuatan kecap, miso dan sate, dan dapat menghasilkan asam sitrat sebagai metabolit sekunder (Berka *et al.*, 1992). *A. tubingensis* kadang-kadang menghasilkan sklerotia (Samson *et al.*, 2004).

Distribusi keanekaragaman isolat *Aspergillus* yang diisolasi dari simplisia rimpang kunyit dapat dilihat pada tabel di bawah ini. Tabel 2. menunjukkan bahwa semua sampel rimpang kunyit terkontaminasi oleh *Aspergillus* dengan jumlah jenis yang bervariasi. Menurut Filtenborg *et al.* (2004) alasan dominasi spesies kapang tertentu pada suatu substrat belum dapat diketahui secara pasti, kemungkinan hal tersebut berhubungan dengan karakteristik spesies.

Tabel 2. Distribusi jenis kapang *Aspergillus* pada empat sampel rimpang kunyit

Sampel	Isolat 1	Isolat 2	Isolat 3	Isolat 4	Isolat 5	Isolat 6	Σ Jenis Kapang
A	+	+	-	+	-	+	4
B	+	-	+	+	+	+	5
C	+	+	-	+	+	+	5
D	+	-	-	+	+	+	4
Persentase kehadiran	100%	50%	25%	100%	75%	100%	

Keterangan : Isolat 1. *Aspergillus wentii*, Isolat 2. *Aspergillus sulphureus*, Isolat 3. *Aspergillus parasiticus*, Isolat 4. *Aspergillus flavus*, Isolat 5. *Aspergillus awamori*, Isolat 6. *Aspergillus tubingensis*. A. Pasar Peterongan, B. Pasar Johar, C. Pasar Karang Ayu, D. Toko Jamu

Kontaminasi kapang *Aspergillus* pada simplisia rimpang kunyit dapat terjadi selama masa tanam, pasca panen atau saat penjualan. Kapang hanya dapat tumbuh pada kondisi yang sesuai, kondisi pertumbuhan untuk setiap spesies berbeda-beda (Filtenborg *et al.*, 2004). Simplisia rimpang kunyit menyediakan senyawa-senyawa yang dibutuhkan oleh *Aspergillus* untuk dapat tumbuh seperti karbohidrat dan protein, menurut Filtenborg *et al.* (2004) kapang tidak dapat mensintesis karbohidrat sendiri. Simplisia rimpang kunyit mengandung pati 69,4% dan protein 6,3% (Chattopadhyay *et al.*, 2004). Selain nutrisi faktor lain yang juga penting adalah kadar air rimpang, sampel rimpang kunyit memiliki kadar air yang bervariasi yaitu 11-13% (Lampiran 2.). Menurut Bappenas (2002) kadar air minimum untuk rimpang kunyit kering adalah 8%. Peningkatan kadar air tersebut membuat kondisi rimpang mendukung bagi pertumbuhan kapang *Aspergillus*. Menurut Desrosier (1988) kapang dapat tumbuh pada substrat berkadar air serendah-rendahnya 12%. Pada Tabel 2. terlihat bahwa sampel B dan C terdapat lima jenis kapang *Aspergillus*, hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh kadar air rimpang yang cukup tinggi yaitu 13, 27% dan 12, 61% (Lampiran 2.). Sampel D memiliki empat jenis isolat kapang *Aspergillus*, hal ini kemungkinan disebabkan karena sampel D dijual dalam kemasan plastik, sehingga mengurangi kontaminasi dari udara. Sampel A memiliki empat jenis isolat kapang *Aspergillus*, hal ini kemungkinan disebabkan karena sampel A memiliki kadar air yang cukup rendah yaitu 11,57% (Lampiran 2.).

Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi adalah suhu dan kelembaban lingkungan. Menurut Samson *et al.*, (2004) bila kadar air rendah dan Rh



disekitarnya tinggi, maka akan terjadi penyerapan uap air dari udara sehingga bahan menjadi lembab dan kadar airnya meningkat.

*Aspergillus wentii*, *A. flavus* dan *A. tubingensis* merupakan isolat yang ditemukan pada seluruh sampel. Menurut Raper and Fennel (1965) *A. wentii* dan *A. flavus* memiliki distribusi yang sangat luas dan dapat ditemukan pada berbagai jenis substrat, sedangkan *A. tubingensis* termasuk dalam kelompok *Aspergillus niger* yang merupakan kontaminan umum yang dapat diisolasi dari berbagai substrat dan mampu hidup pada rentang suhu 13–48 °C (Domsch *et al.*, 1980).

#### 4. 2. Mikotoksin

Pada pemeriksaan kemampuan produksi mikotoksin terhadap keenam isolat *Aspergillus* dengan metode yang digunakan tidak terdeteksi adanya mikotoksin (Tabel 3.), meskipun *A. wentii*, *A. sulphureus*, *A. parasiticus*, *A. flavus* dan *A. awamori* berpotensi menghasilkan mikotoksin.

Tabel 3. Hasil deteksi mikotoksin spesies-spesies *Aspergillus* yang di isolasi dari rimpang kunyit

ISOLAT	MIKOTOKSIN
<i>A. wentii</i>	Tidak terdeteksi
<i>A. sulphureus</i>	Tidak terdeteksi
<i>A. parasiticus</i>	Tidak terdeteksi
<i>A. flavus</i>	Tidak terdeteksi
<i>A. awamori</i>	Tidak terdeteksi
<i>A. tubingensis</i>	Tidak terdeteksi

Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena, pertama mikotoksin yang dihasilkan merupakan jenis yang tidak dapat berfluoresensi dibawah UV, sehingga tidak dapat terdeteksi. Menurut Van Egmond (1995) beberapa mikotoksin, seperti aflatoksin dapat menyerap sinar UV dan memantulkan energi yang diserap tersebut dalam bentuk fluoresensi sehingga dapat dideteksi dengan UV, namun tidak semua mikotoksin dapat dideteksi dengan cara tersebut, banyak mikotoksin yang tidak berfluoresensi di bawah sinar UV, misalnya asam siklopiazonat dan asam aspergillat.

Kemungkinan kedua, isolat yang diperoleh merupakan galur-galur yang tidak bersifat toksik. Filtenborg *et al.* (2004) menyatakan bahwa kehadiran spora atau tumbuhnya jamur penghasil toksin tidak selalu diikuti dengan pembentukan toksin. Kemungkinan ketiga adalah mikotoksin yang dihasilkan sangat sedikit sehingga tidak dapat dideteksi dengan menggunakan metode UV. Kemungkinan keempat adalah bahwa spesies tersebut tidak menghasilkan mikotoksin Samson *et al.* (2004) mengatakan bahwa *A. tubingensis* tidak menghasilkan okratoksin A.

Kondisi untuk pembentukan mikotoksin lebih terbatas dibanding kondisi untuk pertumbuhan. Banyak substrat tidak cocok bagi produksi mikotoksin namun sangat baik bagi pertumbuhan jamur. Menurut Calvo *et al.* (2004) karbohidrat kompleks menghambat produksi mikotoksin, sampel rimpang kunyit kering mengandung pati sebanyak 69,4% kemungkinan hal tersebut juga dapat menyebabkan penghambatan pembentukan mikotoksin, mikotoksin akan lebih mudah terbentuk bila karbohidrat yang tersedia merupakan jenis monosakarida seperti glukosa, fruktosa dan sukrosa. Alasan lain adalah rimpang mengandung zat

yang menghambat pembentukan mikotoksin Chattopadhyay *et al.* (2004) menyatakan curcumin bersifat menghambat pertumbuhan mikroba, sehingga ada kemungkinan curcumin tersebut menghambat pertumbuhan kapang sehingga produksi mikotoksin oleh kapang terhambat.

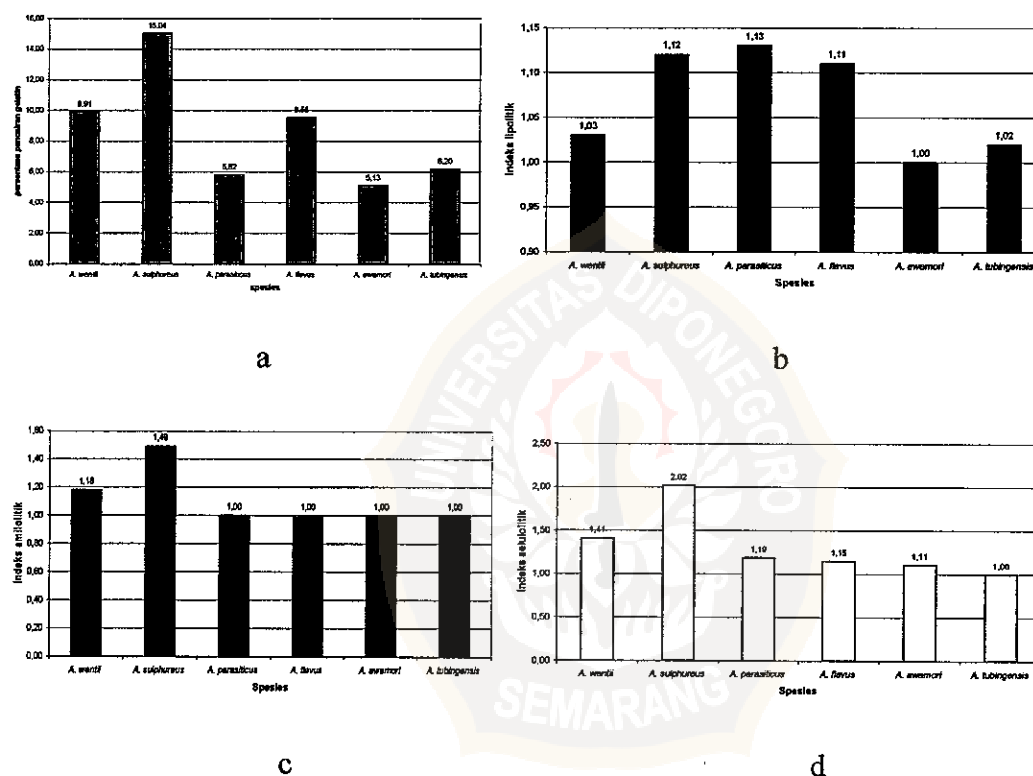
Kondisi yang diperlukan untuk memproduksi mikotoksin adalah spesifik untuk masing-masing spesies. *Aspergillus parasiticus* pada suhu optimum 25 °C dan glukosa 30% menghasilkan aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, asam kojat dan juga sterigmatosistin (Domsch *et al.*, 1980).

Pada *Aspergillus flavus* suhu optimum untuk pembentukan aflatoksin adalah 20-40 °C dan kadar air 30% (Domsch *et al.*, 1980; Jacobson, 1993). Oksigen juga mempengaruhi pembentukan mikotoksin. Pada konsentrasi oksigen kurang dari 1% produksi aflatoksin terhambat, walaupun Aflatoksin diproduksi terutama oleh *A. flavus* namun ada galur-galur *A. flavus* yang tidak memproduksi aflatoksin (*non toxic strain*). *Aspergillus wentii* diketahui menghasilkan aflatoksin B<sub>1</sub> dan ochratoxin A (Domsch *et al.*, 1980; Varga *et al.*, 1996).

*Aspergillus sulphureus* dapat menghasilkan ochratoxin A dan asam penisilat. Ochratoxin bersifat karsinogenik dan target organ utamanya adalah ginjal. Asam penisilat biasanya diproduksi selama masa penyimpanan dan biasanya dihasilkan bersama dengan ochratoxin A. Asam penisilat menyebabkan nekrosis pada hati dan ginjal (Pier and Richard, 1992). *Aspergillus awamori* diketahui menghasilkan ochratoxin A (Samson, 2004) dan *Aspergillus tubingensis* umumnya bersifat patogen pada tanaman seperti kacang tanah (Raper and Fennel, 1965).

### 4. 3. Aktivitas Enzim

Kemampuan enzimatis isolat-isolat *Aspergillus* yang diisolasi dari kunyit bahan jamu kering dapat dilihat pada Tabel 6. (Lampiran 3). Kemampuan enzimatis yang diamati meliputi kemampuan amilolitik, proteolitik, selulolitik dan lipolitik.



Gambar 5. Diagram aktivitas enzimatis isolat *Aspergillus* yang di isolasi dari rimpang kunyit; a. aktivitas protease; b. aktivitas lipase; c. aktivitas amilase; d. Aktivitas selulase .

Berdasarkan Gambar 5. di atas dapat dilihat bahwa semua isolat menghasilkan amilase, protease, lipase dan selulase. *A. sulphureus* memiliki aktivitas protease, amilase dan selulase yang paling tinggi. *A. sulphureus* menurut

Raper and Fennel (1965) memiliki aktivitas selulolitik, proteolitik dan amilolitik. Berdasarkan hasil uji aktivitas enzim spesies *A. sulphureus* yang diperoleh memiliki potensi lipolitik yang cukup baik.

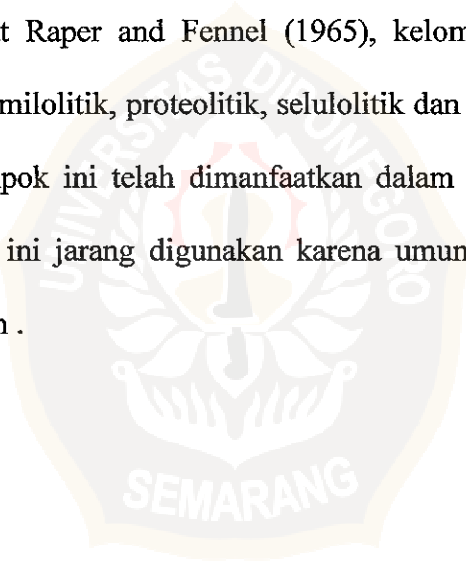
Aktivitas lipase yang paling tinggi dihasilkan oleh *Aspergillus parasiticus*. Menurut Domsch *et al.*, (1980) dan Raper and Fennel, (1965) *A. parasiticus* diketahui mampu menghasilkan kitinase, protease, amilase dan lipase. Dari hasil yang diperoleh *A. parasiticus* memiliki kemampuan protease, amilase, selulase dan lipase, bahkan kemampuan lipolitiknya merupakan yang paling tinggi diantara isolat-isolat yang lain, meskipun demikian penggunaan *A. parasiticus* dalam bidang industri sangat jarang karena kapang ini merupakan kapang patogen yang dapat memproduksi beberapa mikotoksin yang sangat berbahaya bagi hewan dan manusia.

Menurut Domsch *et al.* (1980) dan Samson *et al.* (2004) *Aspergillus wentii* memiliki aktivitas pektinolitik yang tinggi, selulolitik dan amilolitik yang bervariasi juga proteolitik yang dimanfaatkan dalam industri kecap. Hasil uji aktivitas enzim menunjukkan bahwa spesies *A. wentii* yang diperoleh memiliki potensi kemampuan lipolitik.

*A. flavus* menurut Domsch *et al.* (1980) dapat menghasilkan enzim proteolitik, amilolitik, selulolitik dan lipolitik. Pada spesies *A. flavus* yang diuji, aktivitas tertingginya adalah pada enzim proteolitik. Menurut Berka *et al.* (1992) spesies-spesies *Aspergillus flavus* menghasilkan protease yang tahan pada kondisi pH baik asam, netral maupun basa, akan tetapi kapang ini mampu memproduksi beberapa mikotoksin yang sangat berbahaya.

*A. awamori* merupakan salah satu kapang yang digunakan dalam industri makanan dan minuman seperti sake (Hara *et al.*, 1992). Menurut Berka *et al.* (1992) dan Raper and Fennel (1965) *A. awamori* memiliki kemampuan untuk menghasilkan amilase, protease, selulase dan lipase. Dari hasil uji aktivitas enzim diketahui bahwa *A. awamori* yang diperoleh memiliki potensi proteolitik yang cukup baik, untuk menghasilkan enzim amilase secara maksimum *A. awamori* memerlukan suhu 40 °C (Hara *et al.*, 1992).

Pada *A. tubingensis*, diperoleh hasil bahwa kapang ini memiliki aktivitas proteolitik, amilolitik, selulolitik dan lipolitik. *A. tubingensis* termasuk dalam kelompok *A. niger*, menurut Raper and Fennel (1965), kelompok kapang ini memang memiliki aktivitas amilolitik, proteolitik, selulolitik dan lipolitik, bahkan beberapa spesies dari kelompok ini telah dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri, akan tetapi spesies ini jarang digunakan karena umumnya merupakan kapang patogen pada tanaman .



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5. 1. Kesimpulan

1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada rimpang kunyit kering terdapat 6 jenis *Aspergillus*, yaitu: *A. wentii*, *A. sulphureus*, *A. parasiticus*, *A. flavus*, *A. awamori* dan *A. tubingensis*.
2. *A. wentii*, *A. flavus* dan *A. tubingensis* merupakan jenis yang ditemukan di setiap sampel.
3. Hasil pemeriksaan mikotoksin dengan metode yang digunakan menunjukkan tidak terdeteksi adanya mikotoksin.
4. Hasil uji aktivitas enzim menunjukkan semua isolat *Aspergillus* menghasilkan amilase, protease, lipase dan selulase. *Aspergillus sulphureus* memiliki kemampuan amilolitik, proteolitik dan selulolitik yang paling tinggi, sedangkan *Aspergillus parasiticus* memiliki kemampuan lipolitik tertinggi .

#### 5. 2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas enzim dari isolat-isolat *Aspergillus* yang potensial.
2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk deteksi mikotoksin dengan metode yang lebih baik..
3. Penelitian lebih lanjut mengenai terjadinya abnormalitas pada isolat *Aspergillus flavus*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agharkar, S. P. 1991. **Medical Plants of Bombay Presidency**. Scientific Publisher. India.
- Alexopoulos, C. J., C. W. Mims, M. Blackwell. 1996. **Introductory Mycology**. 4<sup>th</sup> ed. John Wiley & Sons, Inc. USA.
- Bappenas. 2002. **Tanaman obat Indonesia**. [www.iptek.net.id/ind/cakra-obat/tanamanobat.php?id=2](http://www.iptek.net.id/ind/cakra-obat/tanamanobat.php?id=2). 17/09/2003.
- Bennet, J. W & M. Klich. 2003. **Mycotoxins**. *Clinical Microbiology Review*. (16): 497-516.
- Berka, R. M.N.Dunn-coleman, M. Ward. **Industrial enzyme from *Aspergillus* species**. In Bennett, J.W & M.A. Klich (Eds.). 1992. *Aspergillus : Biology and Industrial Application*. Butterworth-Heinemann. USA. p:155-195.
- Brock, T.D & M.T. Madigan. **Biology of Microorganism**. 6<sup>th</sup> ed. Prentice Hall International Inc. USA
- Calvo, A.M.,R.A. Wilson, J.W. Bok & N.P. Keller. 2002. **Relationship between secondary metabolism and fungal development**. *Microbiology and Molecular Biology Review*. 66: 447-459
- Chattopadhyay, I., K. Biswas., U. Bandyopadhyay & R.K. Banerjee. 2004.**Turmeric and curcumin : biological actions and medicinal applications**. *Current Science*. 87: 44-53.
- Dharmaputra, O. S. 1988. **Kapang-kapang Penting Bagi Bioteknologi**. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Domsch, K. H., W. Gams, T. H. Anderson. 1980. **Compendium of Soil Fungi**. Vol. 1. Academic Press. London
- Doran, J. 2004. **Final report for screening of *Aspergillus niger* strains for enzymes production in sugar beet pulp fermentations to produce fuel ethanol**. [www.michigan.gov/documents.Finalreport2000\\_89154\\_7.pdf](http://www.michigan.gov/documents/Finalreport2000_89154_7.pdf). 09/05/2005.
- Egmond, H. P. **Mycotoxins in food : analysis, detection and legislation** In Samson, R.A., E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad & O. Filtenborg (Eds.). 1995 *Introduction to Food-Borne Fungi*. Centraalbureau voor Schimmecultures. Netherland. p: 261-269.



- Filtenborg, O., J.C. Frisvad & R.A. Samson. **Specific association of fungi to foods and influence of physical environmental factors** *In* Samson, R.A., E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad & O. Filtenborg (Eds.). 2004. *Introduction to Food-Borne Fungi*. Centraalbureau voor Schimmecultures. Netherland. p:306-320
- Frazier, W.C & D.C. Westhoff. 1988. **Food Microbiology**. 4<sup>th</sup> ed. Mc Graw hill inc. New York
- Gams, W., H.A. van der Aa, A.J. van der Plaats-Niterink, R.A. Samson & J.A. Stalpers. 1987. **CBS Course of Mycology**. 3<sup>rd</sup> ed. Centraalbureau voor Schimmecultures. Netherland.
- Gandjar, I, R.A. Samson, K. van den Tweel-Vermeulen, A. Oetari & I . Santoso. 1999. **Pengenalan Kapang Tropik Umum**. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Gandjar, I. 2003. **Fungal Deterioration**. *Passage in Microbiology Celebration The Career of Prof. Dr. Indrawati Gandjar in Honour of Her 70<sup>th</sup> Birthday*. Universitas Indonesia. Jakarta
- Handayani, S & J. Sulisty. 2000. **Analisis keragaman kapang pencemar pakan unggas komersil** . *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 5: 36-38.
- Hara, S., K. Kitamoto & K. Gomi. **New development in fermented beverages and foods with *Aspergillus*** *In* Bennett, J. W & M. A. Klich (Eds.). 1992. *Aspergillus : Biology and Industrial Application*. Butterworth-Heinemann. USA. p:133-151.
- Jacobsen, B.J, K.L. Bowen, R.A. Shelby, U.L. Diener, B.W. Kemppairen & J.Floyd.1993.**Mycotoxin and Mycotoxicoses**. [www.aces.edu/departement/Grain/ANR767.htm](http://www.aces.edu/departement/Grain/ANR767.htm). 02/03/2005.
- Jawetz, E., J.L. Melnick & E.A. Adelberg. 1991. **Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan**. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Klich, M.A, L.H. Tiffany and G. Knaphus. **Ecology of the Aspergilli of soils and litter** *In* Bennett, J.W & M.A. Klich (Eds.). 1992. *Aspergillus : Biology and Industrial Application*. Butterworth-Heinemann. USA. p:329-350.
- Klich, M.A. 2002. **Identification of Common *Aspergillus* species**. Centraalbureau voor Schimmecultures. Netherland
- Linz, J. E & J.J. Pestka. **Mycotoxins : Molecular strategies for control** *In* Bennett, J. W & M. A. Klich (Eds.). 1992. *Aspergillus : Biology and Industrial Application*. Butterworth-Heinemann. USA. p:217-229.

- Makfoeld, D. 1993. **Mikotoksin Pangan**. Kanisius. Yogyakarta
- Moreau, C. 1979. **Mould, Toxin and Food**. John Wiley & Sons. Ltd. London.
- Northolt, M.D., J.C. Frisvad & R.A. Samson. **Occurrence of food-borne fungi and factors for growth**. In Samson, R.A., E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad & O. Filtenborg (Eds.). 1995. *Introduction to Food-Borne Fungi*. Centraalbureau voor Schimmecultures. Netherland. p:243-250
- Pier, A.C & J.L. Richard. **Mycoses and mycotoxicoses of animals caused by Aspergilli** In Bennett, J. W & M. A. Klich (Eds.). 1992. *Aspergillus : Biology and Industrial Application*. Butterworth-Heinemann. USA. p:233-247
- Post, F. J. 1992. **A Laboratory Manual for Food Microbiology and Biotechnology**. Star Publishing Company. USA
- Rao, M.B. A.M. Tanksale. M.S. Ghatge & V.V. Deshpande. 1998. **Molecular and biotechnological aspects of microbial protease**. *Microbiology and Molecular Biology Review*. 62: 597-635.
- Raper, K.B & D.J. Fennel. 1965. **The Genus Aspergillus**. The Williams & Wilkins Company. Baltimore.
- Samson, R.A., J.A.M.P. Houbraken, A.F.A. Kujipers, J.M. Frank & J.C. Frisvad. 2004. **New ochratoxin A or sclerotium producing species in Aspergillus section Nigri**. *Studies in Mycology*. 50: 45-61.
- Samson, R.A, E.S. Hoekstra, F. Lund, J.C. Frisvad & O. Filtenborg. **Methods for the detection, isolation and characterisation of food-borne fungi**. In Samson, R.A., E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad & O. Filtenborg (Eds). 2004 *Introduction to Food and Air Borne Fungi*. Centraalbureau voor Schimmecultures. Netherland. p:283-297.
- Samson, R.A. **Current taxonomic schemes of the genus Aspergillus and its teleomorphs**. In Bennett, J. W & M. A. Klich (Eds.). 1992. *Aspergillus : Biology and Industrial Application*. Butterworth-Heinemann. USA. p:355-387.
- Samson, R.A. 1992b. **Mycotoxins : A mycologist's perspective**. *Journal Medical & Veterinary Mycology*. 30: 9-18.
- Smith, J. L & M. J. Haas. **Lipolytic microorganism** In Vanderzant, C & D. F. Splittstoesser (eds.). 1992 *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Third Edition. American Public Health Association. USA. p:183-191.

- Tjitrosoepomo, G. 2002. **Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)**. Edisi ke 7. UGM Press. Yogyakarta.
- Varga, J.E. Kevei, E. Rinyu, J. Teren & Z. Kozakiewicz. 1996. **Ochratoxin Production by *Aspergillus* Species**. *Applied Environmental Microbiology*. 62: 4461-4464..
- Vriest, R.P., C.H. Poulsen, S. Madrid & J. Visser. 1998. ***aguA*, The gene encoding an extracellular  $\alpha$ -Glucuronidase from *Aspergillus tubingensis*, is specifically induced on xylose and not on glucuronic acid**. *Journal of Bacteriology*. 180: 243-249.
- Walsh, G & D. R. Headon. 1994. **Protein Biotechnology**. John Wiley & Sons Ltd. England



### Lampiran 1. Lembar Pengamatan morfologi *Aspergillus*

#### Koloni pada CDA (7 hr)

Warna koloni	:
Diameter koloni (Cm)	:
Tekstur koloni	: Velvety/granullary/cottony
'Reverse of colony'	:
Radial furrows	: ada/tidak
Growing Zone	: ada/tidak
Exudate drop	: ada/tidak

#### Kepala konidia

Bentuk	: Globbose/radial/kolumnar/Kolumnar divergen
--------	----------------------------------------------

#### Konidia

Bentuk	: Eliptical/ globbose/ sub-globbose
Ukuran ( $\mu$ )	:
Permukaan	: Kasar/halus
Susunan	: Radial/kolumnar
Warna	:

#### Phialid dan metula

Susunan	: Uniseriate / Biseriate
Ukuran metula ( $\mu$ )	:
Ukuran phialid ( $\mu$ )	:

#### Vesikel

Bentuk	: globbose/sub-globbose/clavage
Diameter ( $\mu$ )	:

#### Konidiofor

Warna	:
Permukaan	: halus/kasar
Panjang	:
Diameter ( $\mu$ )	:

#### Struktur tambahan

Sklerotia	: ada/tidak
'Hulle cells'	: ada/tidak
Klestotesium	: ada/tidak

## Lampiran 2. Faktor-faktor lingkungan

Tabel 4. Hasil pengukuran kadar air sampel rimpang kunyit

Sampel	Kadar Air (%)
A	11,57
B	13,27
C	12,61
D	12,80

Keterangan : A. Pasar Peterongan, B. Pasar Johar, C. Pasar Karang Ayu, D. Toko Jamu

Tabel 5. Suhu dan kelembaban lingkungan tempat pengambilan sampel

Sampel	Suhu (°C)	Kelembaban (%)
A	31	65
B	31	70
C	30	72
D	31	69

Keterangan : A. Pasar Peterongan, B. Pasar Johar, C. Pasar Karang Ayu, D. Toko Jamu



Lampiran 3. Pengujian aktivitas enzim spesies-spesies *Aspergillus* yang di isolasi dari rimpang kunyit

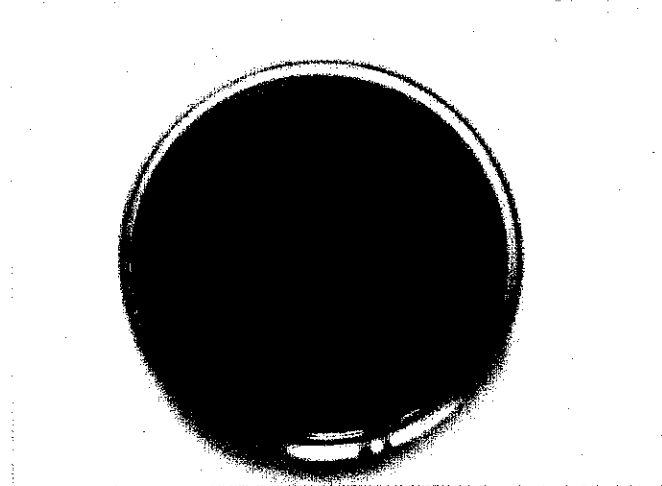
Tabel 6. Hasil uji aktivitas proteolitik, lipolitik, amilolitik dan selulolitik

Spesies	*Persentase pencairan gelatin (%)	**Indeks lipolitik	**Indeks amilolitik	**Indeks selulolitik
<i>A. wentii</i>	9,91	1,03	1,18	1,41
<i>A. sulphureus</i>	15,04	1,12	1,49	2,02
<i>A. parasiticus</i>	5,82	1,13	1	1,19
<i>A. flavus</i>	9,55	1,11	1	1,15
<i>A. awamori</i>	5,13	1	1	1,11
<i>A. tubingensis</i>	6,20	1,02	1	1

Keterangan :

\*Presentase pencairan gelatin =  $\frac{\text{Volume gelatin cair}}{\text{Volume awal gelatin}} \times 100\%$

\*\*Indeks =  $\frac{\text{Diameter zona hidrólisis}}{\text{Diameter koloni}}$

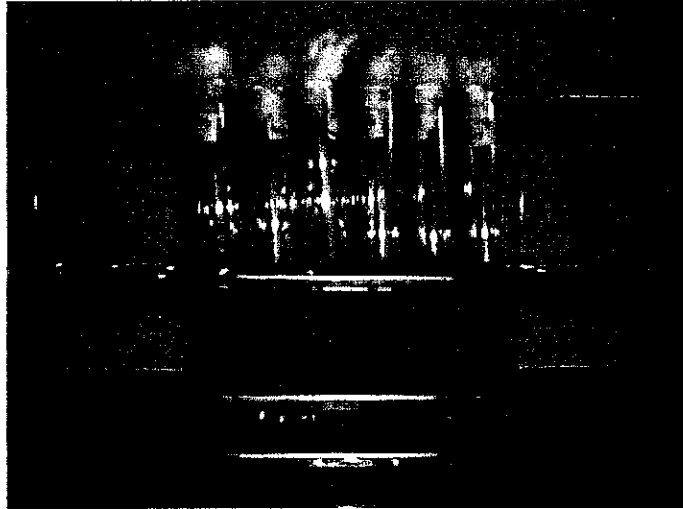


Gambar 6. Aktivitas amilolitik *Aspergillus wentii* yang di isolasi dari rimpang kunyit pada medium Agar amilum.



Gambar 7. Aktivitas lipolitik *Aspergillus sulphureus* yang di isolasi dari rimpang kunyit pada medium Agar tributirin





Gambar 8. Pengujian aktivitas proteolitik spesies-spesies *Aspergillus* yang di isolasi dari rimpang kunyit pada medium Gelatin 15%



Gambar 9. Aktivitas selulolitik *Aspergillus sulphureus* yang di isolasi dari rimpang kunyit pada medium Agar CMC

#### Lampiran 4. Komposisi medium

##### 1. Medium *Taoge Extract Agar* (TEA), per 1 Liter

Taoge	100 g
Sukrosa	60 g
Agar	15 g
Aquadest	1 L

##### 2. Medium Agar Amilum, per 1 Liter

Agar	12 g
Soluble strarch	10 g
Beef Extract	3 g
Aquadest	1 L

##### 3. Medium *Czapex Dox Agar* (CDA), per 1 Liter

Sukrosa	30 g
Agar	15 g
NaNO <sub>3</sub>	3 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,5 g
KCl	0,5 g
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,01 g
Aquadest	1 L

##### 4. Medium Agar CMC, per 1 Liter

CMC	10 g
KNO <sub>3</sub>	3 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
NaCl	0,5 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,01 g
Yeast Extract	0,5 g
Agar	15 g
Aquadest	1 L
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,01 g

